

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569						
Název projektu pokusů						
Ověření terapeutického efektu nové generace aktivovatelných protinádorových protilátek <i>in vivo</i> metodami magnetické rezonance a optického zobrazování						
Doba trvání projektu pokusů - v měsících		36				
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾		diagnostika nádorů, detekce transplantovaných buněk, multimodální zobrazování, vyhodnocení účinnosti terapeutických protilátek				
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností						
☐ základní výzkum						
☒ translační a aplikovaný výzkum						
☐		kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)				
☐ legislativní účely		jiné zkoušení účinnosti a tolerance				
☐ a běžná výroba		zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie				
☐		běžná výroba				
☐ ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat						
☐ zachování druhů						
☐ vyšší vzdělávání						
☐ odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí						
☐ trestní řízení a jiné soudní řízení						
☐ udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech						
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb						
Cílem studie je ověření a zavedení nové metody pro vizualizaci nádorové tkáně, vyhodnocení účinnosti terapeutických protilátek na zvířecích modelech metastazujících nádorů a současné zobrazení pomocí metod magnetické rezonance a optického zobrazování (fluorescence, luminiscence).						
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)						
Mezi hlavní přínosy projektu patří vylepšení metodiky monitorování růstu primárních tumorů a metastáz a terapeutické účinnosti nové generace protinádorových protilátek pomocí MRI a metod optického zobrazování, zavedení metodiky pro detekci tvorby metastáz a sledování účinnosti léčiv na metastazující tumory, nová <i>in vivo</i> data o účinnosti a vedlejších efektech experimentálních protilátek a srovnání se schválenými protilátkami (Ipilimumab a Cetuximab) používanými pro onkologickou léčbu v ČR a data o distribuci maskovaných protilátek <i>in vivo</i> , jejich aktivaci, efektivní koncentraci, působení v tumoru a jejich následné eliminaci.						
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání						
Injekce 250000 buněk do podkoží nebo 30 mm ³ tkáně v celkové inhalační anestézii, intraperitoneální aplikace protilátek (3 dávky protilátky v maximálním objemu pro jednu dávku 1ml aplikované intraperitoneálně v intervalu 3 dnů, první dávka aplikována 1 den po dosažení velikosti nádoru 50 mm ³), opakované MR měření po dobu max. 6 měsíců (měřeno 4, 7, 10, 13, 16, 21, 28 den, pak 1x měsíčně po indukci nádoru). Odebírání krve pro určení jaterních testů (1 x měsíčně) až do ukončení pokusu.						
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků						
Indukce nádoru u všech zvířat. Při velikosti nádoru nad 2 cm ³ ukončení experimentu. Testované protilátky by měly mít mírnější vedlejší účinky v porovnání s komerčními, nicméně přesné účinky nejsou známy a budou podstatou výzkumu.						
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu						
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu		Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
			Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)		460			460	
Zvolte položku.						

Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uvedte</i>					
Zvířata z důvodu injekce buněk nelze použít do jiného typu experimentu.					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uvedte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
Pro stanovení biodistribuce protilátky <i>in vivo</i> a vizualizaci tumorové tkáně neexistuje alternativní metoda. Živý organismus nemůže být nahrazen žádnou buněčnou linií ani <i>in vitro</i> modelem, protože se jedná o studium odpovědi celého organismu.					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>					
Počet zvířat bude takový, aby se výsledky daly statisticky vyhodnotit. Pokud se dosáhne takového počtu ve skupině, další zvířata v této skupině použita nebudou. Měření (a injekce buněk) bude prováděno při inhalační anestézii. Na zvířatech <i>in vivo</i> budou testovány pouze netoxické látky, proto neočekáváme nežádoucí účinky na organismus. Pro snížení stresu zvířat a zajištění jejich pohodlí, růst nádoru bude monitorován a tumor bude extrahován po dosažení průměru přibližně 1 cm. Budou prováděny pokusy se střední závažností. Po ukončení pokusu budou zvířata usmrcena předávkováním anestetikem. Likvidace těl zvířat usmrcených během a po ukončení experimentu - odvoz do kafilerie asanační službou dle stanovených a zákonem vymezených podmínek.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uvedte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>					
Veškeré zákroky probíhají v celkové anestézii, bolesti po injekčním zákroku se nepředpokládají. Zdravotní stav zvířat a růst nádoru bude pravidelně kontrolován a tumor bude extrahován a charakterizován po dosažení průměru přibližně 2 cm ³ . V případě moribundního stavu budou zvířata usmrcena.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Jedná se o vyhodnocení účinnosti terapeutických protilátek na zvířecích modelech metastazujících nádorů. K tomu jsou vhodné tyto druhy myši:					
Alogenní modely (BALB/c) a xenogenní modely (athymické NU-Foxn1nu nude myši).					

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nespecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech